Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 1, Spring 2021, p. 91-107

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۱، بهار ۱۴۰۰، ص. ۱۰۷-۹۱

مقاله علمی- پژوهشی

تعیین ترکیب شیمیایی، فراسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم برگ چند گونه درختی (با و بدون افزودن پلی‌اتیلن‌گلایکول) مورد استفاده در تغذیه دام

روح ا... شهرکی[1]، جواد بیات کوهسار[2]*، فرزاد قنبری[2]، ابوالفضل دانشور[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۰۲

چکیده

مطالعه‌ای به‌منظور تعیین ترکیب شیمیایی، فراسنجه‌های تولید گاز و مولفه‌های قابلیت هضمی برگ چند گونه درختی مورد استفاده در تغذیه دام در قالب طرح کاملا تصادفی (۷ تیمار و ۳ تکرار) انجام شد. در این مطالعه از ترکیب پلی اتیلن گلایکول به صورت افزودنی در سطح توصیه شده (دو برابر وزن نمونه‌های آزمایشی) استفاده شد. ترکیب شیمیایی نمونه‌ها با استفاده از روش‌های استاندارد تعیین شد. به‌منظور برآورد فراسنجه‌های تولید گـاز، از روش آزمون گاز استفاده شد. قابلیت هضم برون‌تنی نمونه‌ها با استفاده از روش کشت بسته تعیین شد. نتایج نشان داد که مقادیر ماده خشک، ماده آلی، غلظت الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی، همی‌سلولز و میزان خاکستر در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت. بیشترین مقدار خاکستر در تیمار افرا (۱/۲۷ درصد) و کمترین مقدار در تیمارهای بلوط، ممرز و چلم (به‌ترتیب ۰/۵۲، ۰/۵۶ و ۰/۵۸ درصد ماده خشک) مشاهده شد. مقدار پروتئین خـام گونه‌های مختلف درختی در دامنه ۷ تا ۱۸ درصد قرار داشت. بیشترین مقدار تانن در درخت راش (۰/۰۶۳ گرم در کیلوگرم ماده خشک) و کمترین مقدار در برگ درخت بلوط (۰/۰۱۸ گرم در کیلوگرم ماده خشک) مشاهده گردید. نتایج نشان داد که در بین تیمارهای آزمایشی از نظر قابلیت هضم ماده آلی، انرژی قابل متابولیسم و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر اختلاف معنی‌داری وجود داشت. بیشترین پتانسیل و نرخ تولید گاز در برگ درخت چلم بدون افزودن پلی‌اتیلن گلایکول مشاهده شد (به‌ترتیب ۲۱۴/۹ میلی‌لیتر و ۴/۳۴ میلی‌لیتر در ساعت). افزودن پلی‌اتیلن گلایکول باعث افزایش میزان تولید گاز، کاهش عامل تفکیک، تولید پروتئین میکروبی و افزایش بازده تولید گاز در گونه‌های مورد مطالعه شد. به طور کلی، نتایج این مطالعه نشان داد که برگ برخی از درختان (آزاد، چلم، نمدار، راش، افرا، بلوط و ممرز) می‌تواند به عنوان مکمل پروتئینی در خوراک‌های بر پایه علوفه کم کیفیت برای زمان خشک‌سالی و کمبود علوفه در جیره نشخوارکنندگان استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: برگ درخت، ترکیب شیمیایی، پلی‌اتیلن‌گلایکول، تولید گاز، قابلیت هضم.

مقدمه

معمولاً در مناطق خشک و نیمه‌خشک مواد مـورد اسـتفاده در تغذیه دام گران بوده و اسـتفاده از آن‌هـا در تغذیـه نشـخوارکنندگان ناکارآمد و پرهزینه است (۴۰). استفاده از مواد خوراکی که رقـابتی بـا زنجیره‌ی غذایی انسانی ندارد، بهترین راهکار موجود با هدف افزایش تأمین مواد مغذی از چنین خوراک‌هایی برای تغذیه‌ی حیوانات مزرعه-ای است. در این راستا استفاده از منابع علوفه‌ای بـا کیفیـت پـایین و بقایای صنایع غذایی و کشاورزی مورد توجه متخصصـین تغذیـه دام بوده است (۵۲). از نقطه نظر اقتصادی-اجتماعی و با توجه به سابقه‌ی دیرینه‌ی دامداری در ایران، مراتع به‌عنـوان یکـی از مهمتـرین منبـع تولید علوفه به‌شمار می‌آیند (۷). مراتع از نظر تأمین علوفه‌ی مورد نیاز دام‌ها، پشتوانه‌های پروتئینی کشور به‌حساب می‌آیند و سـلامت دام و در نتیجه سلامت منابع پروتئینی و لبنی کشور وابسته به نوع علوفه و کیفیت آن است. اما عواملی نظیر شرایط متغیر اقلیمی کشور، مدیریت ناصحیح کنونی، وضعیت نامساعد مراتع و بهره‌برداری غلط منجربـه نابودی و انهدام قسمت‌های زیادی از این منابع شده و پاسخگوی نیاز دام‌ها نمی‌باشند (۳۹).

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران.
۲- استادیار ، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشـگاه گنبـد کاووس، گنبد کاووس، ایران.
۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایـه و مهندسـی، دانشـگاه گنبـد کاووس، گنبد کاووس، ایران.
(*- نویسنده مسئول: (Email: javad_bayat@yahoo.com
Doi:10.22067/ijasr.v13i1.83977

در بسیاری از موارد علوفه دستی، پس‌چر مزارع و حتی برگ، شاخه و میوه‌های درختان و درختچه‌های موجود در مراتع مشجر نیز مورد استفاده دام‌ها قرار می‌گیرد (۵۰). وسعت جنگل‌های ایران حدود ۱۳/۸۶ میلیون هکتار است که به دو بخش جنگل‌های مرطوب و صنعتی شمال و جنگل‌های نیمه‌مرطوب و حمایتی خارج از شمال تقسیم می‌شوند (۱۵). در مراتع مشجر برگ و سرشاخه‌های گونه‌های درختی و درختچه‌ای بومی مانند انواع اکاسیاها و دیگر درختچه‌ها منابع ارزان نیتروژن و پرتئین خام و مواد معدنی می‌باشند که می‌توانند به عنوان مکمل در جیره‌های حاوی بقایای محصولات با کیفیت پایین گنجانده شوند و به تغذیه نشخوارکنندگان برسند (۴۷، ۴۸). قسمت‌های مختلف درختان و درختچه‌ها و بوته‌ها (برگ‌ها، ساقه‌ها، غلاف، میوه‌ها، پوست و بخش‌های نرم) به‌دلیل مقدار پروتئین‌شان (۱۰ تا ۲۵ درصد) به عنوان منابع پروتئین محسوب می‌شوند (۱). از این رو، می‌توان از برگ و سرشاخه‌های گونه‌های مختلف درختچه‌ای و درختی به‌عنوان مکمل پروتئینی در جیره‌های بر پایه علوفه‌های با کیفیت پایین که منابع حجیم خوراکی در نواحی نیمه خشک و گرمسیری هستند، استفاده کرد (۴۷).

مشکل عمده استفاده از برخی برگ‌های درختان جنگلی مثل بلوط، وجود مواد ضد تغذیه‌ای از جمله تانن و اثر منفی آن بر دام می‌باشد (۲۶). تانن‌ها ترکیبات فنولی و ثانویه گیاهی هستند که به‌طور گسترده در گیاهان وجود دارند (۱، ۵۹). تانن‌ها به دو گروه اصلی قابل هیدرولیز[1] و متراکم[2] تقسیم شده و از تجزیه آن‌ها جلوگیری می کنند، بنابراین مقدار عبور آن‌ها به قسمت‌های پایین‌تر دستگاه گوارش را افزایش می‌دهند. اما اثر منفی تانن‌ها در تغذیه نشخوارکنندگان را می‌توان این‌گونه بیان کرد که تانن‌ها پروتئین‌های خوراک و آنزیم‌های گوارشی را رسوب داده و هضم پروتئین‌ها و سایر مواد مغذی را کاهش می‌دهند (۱۶). تانن‌ها با کاهش تعداد باکتری‌های تجزیه‌کننده سلولز، هضم الیاف، خروج مواد از شکمبه و مصرف خوراک را کاهش می‌دهند (۵۷).

تاکنون مطالعات مختلفی در ارتباط با ارزش تغذیه‌ای و مصرف برگ گونه‌های درختی، درختچه‌ای و بوته‌ای در سطح جهانی، منطقه‌ای، ملی و محلی انجام شده است. با نتایج مطالعات نشان داد که بالاترین قابلیت هضم ماده خشک (۷۳/۵۶ درصد) مربوط به *L. leucocephala* و پایین‌ترین مقدار (۴۵/۳۲ درصد) مربوط به *T. grandis* بود. به‌طور کلی، اطلاعات اندکی در این زمینه وجود دارد (۴۴). در آزمایشی گونه‌های *اقاقیا بولیویانا* و *لوکانا لوکاناسفالا*، به نسبت ۱:۱ با ذرت علوفه‌ای، سیلو شده و به تغذیه گاوهای شیری رسید. قابلیت هضم ماده‌ی خشک سیلاژ اقاقیا/ذرت تقریباً مشابه با سیلاژ ذرت (۶۲/۲ در مقابل ۶۳/۸ درصد) و هر دو بالاتر از سیلاژ لوکانا/ذرت (۵۷/۶ درصد) بود. بسیاری از گونه‌های علوفه‌ای مثل اقاقیا حاوی ترکیبات ثانویه‌ای مانند تانن است که اثرات سودمند و گاهاً مضری بر حیوانات اهلی دارد (۱۵). بیشتر گونه های شاخ و برگدار در مطالعات مختلف حاوی غلظت متوسط و بالا پروتئین خام از ۱۲۰ تا ۲۹۲ گرم بر کیلوگرم بودند (۹). مقادیر بالای پروتئین در درختان و درختچه‌ها نشان دهنده پتانسیل آن‌ها به‌عنوان مکمل‌های پروتئینی برای خوراک‌های کم کیفیت نشخوارکنندگان است. مقادیر تانن در گونه‌های مختلف برگ درختان در دانه ۰/۳۶ درصد تا ۵/۲۶ درصد گزارش شده است (۴۶).

بنابراین با توجه به محدود بودن منابع خوراک دام در کشور و از طرفی نیاز روزافزون محصولات دامی و لزوم شناسایی محصولات فرعی کشاورزی و منابع طبیعی و ارزش تغذیه‌ای آن‌ها علی‌الخصوص محصولات کشاورزی و منابع طبیعی بومی و سازگار با شرایط نامساعد اقلیمی، هدف از انجام این پژوهش، تعیین ترکیب شیمیایی، فراسنجه‌های تولید گاز و مولفه‌های قابلیت هضمی برگ چند گونه درختی مورد استفاده در تغذیه دام و تاثیر افزودن پلی‌اتیلن گلایکول بود.

مواد و روش‌ها

گرد آوری و آماده سازی نمونهٔ گیاهی

۷ گونه از درختان جنگلی شامل: برگ درخت آزاد[3]، چلم (همیشک)[4]، نمدار[5]، راش[6]، افرا[7]، بلوط[8] و ممرز[9] از جنگل شصت کلاته گرگان با مساحت ۳۷۱۶ هکتار و از منطقه‌ای با عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۴۸ دقیقه و ۶ ثانیه تا ۳۶ درجه و ۴۳ دقیقه و ۲۷ ثانیه شمالی و طول جغرافیایی ۵۷ درجه و ۲۱ دقیقه و ۲۶ ثانیه تا ۵۴ درجه و ۲۴ دقیقه و ۵۷ ثانیه شرقی جمع آوری و مراحل انجام آزمایش در مزرعه آموزشی–پژوهشی و آزمایشگاه تغذیه دام، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبدکاووس انجام شد.

تعیین ترکیب شیمیایی

ترکیب شیمیایی نمونه‌ها مطابق روش استاندارد AOAC (۵) تعیین شد. ماده خشک به وسیله قرار دادن نمونه‌ها در آون با دمای ۶۵ درجه سلسیوس تعیین گردید. خاکستر خام با استفاده از کوره

1- Hydrolyzable Tannins (HT)
2- Condensed Tannins (CT)

3- *Siberian Elm*
4- *Lexandrian Laurel*
5- *Linden*
6- *Beech*
7- *Maple Tree*
8- *Caucasian oak*
9- *Hornbean*

الکتریکی برآورد شد. مقدار چربی خام با استفاده از دستگاه سوکسیله اندازه‌گیری شد. مقدار پروتئین خام نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اتوکلدال تعیین شد (نیتروژن × ۶/۲۵). اندازه گیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی با روش ون سوست (۵۶) انجام شد.

تعیین مواد معدنی و ترکیبات فنولی

اندازه‌گیری سدیم، پتاسیم با دستگاه فلیم‌فتومتر و کلسیم و فسفر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتری (Biochrom Libera- S22) اندازه‌گیری شد (۳). به‌منظور اندازه‌گیری فنل کل مقدار ۰/۱ گرم از نمونه خشک اندام گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول داغ ۸۰ درصد خرد و برای ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. مخلوط رویی برای تغلیظ در حمام آب جوش قرار داده شد. سپس یک میلی‌لیتر از محلول با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. به ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول حاصل، به ترتیب ۲/۵ و ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و مصرف فولین‌سیوکالتو ۵۰ درصد اضافه شد. بعد از مدت ۳ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد اضافه و برای ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. در پایان مقدار جذب نمونه به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۵۰ نانومتر قرائت و سپس میزان فنل کل بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در یک گرم وزن خشک نمونه به‌دست آمد (۲۹). جهت اندازه‌گیری تانن از روش فولین دنیز استفاده شد. به این ترتیب که ۰/۵ گرم نمونه در ده میلی‌لیتر آب مقطر به‌مدت نیم ساعت به آرامی جوشید و سپس در ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. یک میلی‌لیتر از محلول فوقانی به هشت میلی‌لیتر آب مقطر، ۰/۵ میلی‌لیتر فولین دنیز و یک میلی‌لیتر کربنات سدیم اشباع مخلوط شدند، پس از نیم ساعت در تاریکی جذب آن‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت شد (۳۱).

آزمون تولید گاز

تولید گاز تیمارهای آزمایشی بر اساس روش استاندارد اندازه‌گیری شد (۳۴). مایع شکمبه از ۳ راس گوسفند نر نژاد دالاق (۲/۵ ± ۴۵ کیلوگرم) دارای فیستولای شکمبه‌ای قبل از خوراک‌دهی صبح جمع‌آوری شد. حیوانات در سطح نگهداری با جیره حاوی ۷۰ درصد علوفه (یونجه و سیلاژ ذرت به نسبت مساوی) و ۳۰ درصد کنسانتره (جو، کنجاله تخم پنبه، سبوس و مکمل) تغذیه شدند و به آب آزادانه دسترسی داشتند. مایع شکمبه بلافاصله به آزمایشگاه انتقال یافت. بزاق مصنوعی و مایع شکمبه تهیه شده به‌نسبت ۲ به ۱ (۲ حجم بزاق مصنوعی و ۱ حجم مایع شکمبه) به‌داخل بالن مخصوص ریخته شدند. سپس گاز دی‌اکسید کربن به‌داخل مخلوط تزریق شده و در آب گرم با دمای ۳۹ درجه سلسیوس نگهداری شد. در نهایت ۳۰ میلی‌لیتر از این محلول به‌داخل ویال‌های شیشه‌ای حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه با و بدون پلی‌اتیلن گلایکول (دو برابر وزن نمونه‌های آزمایشی، MW= 6000, Merck) ریخته شد. سر این ویال‌های شیشه‌ای به‌کمک درپوش لاستیکی و پوشش آلومینیومی به‌طور کامل بسته شد. ویال‌ها درون حمام آب گرم دارای دمای ۳۹ درجه سلسیوس قرار داده شدند. در طی این مدت، ویال‌های شیشه‌ای در فواصل زمانی معین تکان داده می‌شدند. حجم گاز تولید شده در فواصل زمانی ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بعد از انکوباسیون، به‌صورت تجمعی محاسبه شد. برآورد فراسنجه‌های مختلف تولید گاز توسط نرم‌افزار Fit curve و بر اساس رابطه ۴ انجام شد (۴۲):

$$y = b\,(1 - e^{-ct}) \quad (۴)$$

در این رابطه، y گاز تولید شده در زمان t، b تولید گاز از بخش نامحلول قابل تخمیر، e عدد نپر، c ثابت نرخ تولید گاز برای بخش b و t زمان کشت هستند.

مقادیر انرژی قابل متابولیسم و قابلیت هضم ماده آلی نمونه‌ها با استفاده از معادلات منک و استینگاس (۳۵) و نیز مقدار اسیدهای چرب کوتاه زنجیر براساس رابطه گتاچو و همکاران (۱۷) به‌ترتیب با استفاده از رابطه‌های ۵، ۶ و ۷ برآورد شدند.

$$ME = ۲/۲۰ + ۰/۱۳۶\ GP + ۰/۰۵۷\ CP + ۰/۰۰۲۹\ CF \quad (۵)$$

$$OMD = ۱۴/۸۸ + ۰/۸۸۹\ GP + ۰/۴۵\ CP + ۰/۰۶۵۱\ XA \quad (۶)$$

$$SCFA = ۰/۰۲۲۲\ GP - ۰/۰۰۴۲۵ \quad (۷)$$

در این روابط: ME: انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)، GP: میزان تولید گاز خالص بعد از ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر به ازاء ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)، CP: پروتئین خام (درصد از ماده خشک)، CF: الیاف خام (درصد از ماده خشک)، OMD: قابلیت هضم ماده آلی، SCFA: اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی‌مول) و XA: میزان خاکستر (درصد از ماده خشک) می‌باشند.

برآورد قابلیت هضم برون‌تنی

اندازه‌گیری قابلیت هضم تیمارهای مختلف بر اساس روش کشت بسته انجام شد (۵۴). بدین منظور، ابتدا نمونه‌ها به اندازه یک میلی‌متر آسیاب و سپس خشک شدند. روش تهیه بزاق مصنوعی و جمع‌آوری مایع شکمبه مطابق آنچه در آزمون تولید گاز شرح داده شد، صورت گرفت. با این تفاوت که در آزمایش تعیین قابلیت هضم، داخل هریک از ویال‌های شیشه‌ای ۵۰۰ میلی‌گرم از هر نمونه ریخته شده و ۵۰ میلی‌لیتر از مخلوط بزاق مصنوعی و مایع شکمبه به‌نسبت ۲ به ۱ به داخل هر ویال با و بدون پلی‌اتیلن گلایکول (دو برابر وزن نمونه‌های آزمایشی، MW= 6000, Merck) اضافه شد. سپس به‌مدت ۱۰ ثانیه به‌داخل هر ویال شیشه‌ای گاز دی‌اکسیدکربن وارد شده و درب آن به کمک درپوش لاستیکی و پوشش آلومینیومی به‌طور کامل بسته شد. سپس ویال‌ها درون حمام آب گرم در دمای ۳۹ درجه سلسیوس قرار

داده شدند. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، تمامی ویال‌ها از حمام آب گرم خارج شده و به‌ظرف حاوی یخ منتقل شدند. نمونه‌های موجود در هر ویال، با استفاده از پارچه مخصوص صاف شده و محتویات هضم نشده از فاز مایع جدا شدند. سپس pH فاز مایع نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. پس از صاف کردن محتویات کشت ۲۴ ساعته، نمونه‌های حاصل به‌مدت ۴۸ ساعت در آون ۶۰ درجه سلسیوس خشک شدند. سپس قابلیت هضم ظاهری نمونه‌ها محاسبه شد.

فراسنجه‌های تخمیری شکمبه با روش برون‌تنی

میزان نیتروژن آمونیاکی نمونه‌ها با استفاده از روش فنل-هیپوکلریت تعیین گردید (۱۲). بدین منظور از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر جهت قرائت جذب نوری استفاده شد. محاسبه توده میکروبی تولید شده با استفاده از رابطه ۸ انجام شد (۲۶).

MB (میلی‌گرم) = GP × (PF – ۲/۲) (۸)

در این رابطه، MB تولید توده میکروبی، GP میزان تولید گاز خالص بعد از ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر) و PF عامل تفکیک (میلی‌گرم در میلی‌لیتر) هستند. عامل تفکیک برابر با نسبت میلی‌گرم ماده آلی حقیقی هضم شده بر میلی‌لیتر حجم گاز خالص تولیدی می‌باشد. بازده مقدار توده میکروبی با تقسیم توده میکروبی تولید شده بر مقدار ماده آلی حقیقی قابل تخمیر در پایان زمان انکوباسیون (۲۴ ساعت) محاسبه گردید.

تجزیه آماری داده‌ها

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. مدل آماری طرح به‌صورت رابطه ۹ بود:

$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$ (۹)

در این رابطه، Y_{ij} مقدار هر مشاهده، μ میانگین کل، T_i اثر تیمار و e_{ij} خطای آزمایش هستند.

پردازش داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (۵۱) و رویه GLM انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار[1] استفاده شد.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی

ترکیب شیمیایی نمونه‌های برگ درختان در جدول ۱ نشان داده شده است. مقادیر ماده خشک، ماده آلی، غلظت الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی، همی‌سلولز و میزان خاکستر در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). میزان ماده خشک در بین گونه-های مورد مطالعه از ۳۸/۳۰ تا ۶۱/۶۰ درصد متغیر بود. بیشترین میزان ماده خشک مربوط به برگ درخت بلوط می‌باشد. بیشترین مقدار خاکستر در تیمار افرا (۱/۲۷ درصد) و کمترین مقدار در تیمارهای بلوط، ممرز و چلم (به‌ترتیب ۰/۵۲، ۰/۵۶ و ۰/۵۸ درصد ماده خشک) مشاهده شد. برگ درخت راش بیشترین مقدار الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و خنثی را داشت (به‌ترتیب ۴۵/۰۶ و ۶۶/۷۳ درصد). میزان همی‌سلولز برگ درخت آزاد ۲۳/۰۶، چلم ۱۴/۶۰، نمدار ۱۲/۶۵، راش ۲۱/۷۶، افرا ۹/۶۰، بلوط ۱۷/۶۰ و ممرز ۲۴/۲۰ درصد ماده خشک بود.

ارزش غذایی یک علوفه به ترکیب گیاهی آن وابسته است، زیرا گونه‌های گیاهی ارزش غذایی متفاوتی دارند. همچنین، آگاهی از ترکیبات شیمیایی گیاهان مورد استفاده در تغذیه دام می‌تواند، راه‌حلی برای شناخت کمبودهای احتمالی برخی از مواد مغذی در خوراک دام باشد. اختلاف موجود در ترکیبات شیمیایی گونه‌های مختلف مربوط به توانایی ذاتی آن‌ها در گرفتن مواد مغذی از خاک و تبدیل آن‌ها به بافت‌های گیاهی می‌باشد (۲۱). یوسف الهی و همکاران (۶۰) ارزش تغذیه‌ای برگ درخت کهور را در مراحل مختلف رشد (۳ مرحله) بررسی کردند. محتوای ماده آلی، خاکستر، الیاف شوینده خنثی و اسیدی تحت تاثیر مرحله رشد قرار نگرفت. معمولا در علوفه‌های خانواده لگومینه و گرامینه با پیشرفت مرحله بلوغ محتوای الیاف افزایش و پروتئین خام کاهش می‌یابد (۵۶). در پژوهشی بین برگ گونه‌های مختلف درختان مقدار خاکستر، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و لیگنین را به-ترتیب ۶۰-۳۵، ۳۰۰-۱۰۷، ۵۱۱-۱۵۴، ۳۹۶-۱۴ و ۲۰۶-۵۱ گرم بر کیلوگرم ماده خشک به‌دست آورند (۱).

اندازه‌گیری مواد معدنی و ترکیبات فنولی

مقادیر مواد معدنی و عوامل ضدتغذیه‌ای موجود در برگ درختان آزاد، چلم (همیشک)، نمدار، راش، افرا، بلوط و ممرز در جدول ۲ آمده است. نتایج حاکی از اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف از لحاظ مواد معدنی و ترکیبات فنولی بود (P<۰/۰۵). دامنه تغییرات عناصر معدنی پرمصرف سدیم، پتاسیم، فسفر و کلسیم به‌ترتیب ۸۴۲/۴۸-۲۵۱/۷۱، ۲۸/۷۹-۵/۱۵، ۳/۶۹-۰/۶۲ و ۲۱-۱۴ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک به‌دست آمد که سدیم بیشترین مقدار را در برگ گونه‌های درختی داراست. بالاترین مقدار سدیم در برگ درخت ممرز و پایین‌ترین مقدار در برگ درخت بلوط مشاهده شد. بیشترین مقدار تانن در درخت راش (۰/۰۶۳ گرم در کیلوگرم ماده خشک) و کمترین مقدار در درختان بلوط و افرا (به‌ترتیب ۰/۰۱۸ و ۰/۰۲۸ گرم در کیلوگرم ماده خشک) مشاهده گردید. مقدار فنل در دامنه ۰/۷۷۸-۰/۳۷۴ گرم در کیلوگرم ماده خشک که بالاترین و پایین‌ترین مقدار

1- Least Significant Difference (LSD)

آن به‌ترتیب در بلوط و ممرز (۰/۷۷۸ و ۰/۷۳۹) و نمدار و راش (۰/۳۸۶ و ۰/۳۷۴) گرم در کیلوگرم ماده خشک بود.

جدول ۱– تعیین ترکیب شیمیایی برگ چند گونه درختی[۱]

Table 1- Determination of chemical composition of several tree species[1]

Treatments تیمارها	ترکیب شیمیایی[۲] Chemical compodition[2]									
	DM	OM	Ash	CP	ADF	NDF	Hem	TDN	NE_L	NE_g
آزاد *Siberian Elm*	56.00^{b}	99.07^{c}	0.93^{b}	17.00^{a}	28.60^{d}	51.66^{c}	23.06^{a}	65.47^{b}	1.48^{b}	0.89^{b}
چلم *Lexandrian Laurel*	38.30^{f}	99.42^{a}	0.58^{d}	11.10^{c}	35.06^{b}	49.66^{c}	14.60^{bc}	58.37^{d}	1.31^{d}	0.68^{d}
نمدار *Linden*	45.80^{e}	98.96^{c}	1.04^{b}	18.00^{a}	20.40^{e}	33.00^{e}	12.65^{cd}	72.15^{a}	1.64^{a}	1.08^{a}
راش *Beech*	52.10^{d}	99.24^{b}	0.76^{c}	17.16^{a}	45.06^{a}	66.73^{a}	21.76^{a}	52.85^{e}	1.17^{e}	0.52^{e}
افرا *Maple Tree*	44.60^{e}	98.73^{d}	1.27^{a}	14.50^{b}	29.73^{d}	39.33^{d}	9.60^{d}	63.75^{c}	1.44^{c}	0.83^{c}
بلوط *Caucasian oak*	61.60^{a}	99.48^{a}	0.52^{d}	8.00^{d}	32.46^{c}	50.06^{c}	17.60^{b}	59.26^{d}	1.33^{d}	0.71^{d}
ممرز *Hornbean*	54.00^{c}	99.44^{a}	0.56^{d}	7.00^{d}	31.93^{c}	56.13^{b}	24.20^{a}	59.31^{d}	1.33^{d}	0.71^{d}
SEM	0.577	0.038	0.038	0.503	0.417	1.200	1.240	0.435	0.011	0.012
P-value	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

[۱] میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشابه دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P<0.05$).

[۲] DM: ماده خشک (درصد)، OM: ماده آلی (درصد ماده خشک)، Ash : خاکستر (درصد ماده خشک)، CP: پروتئین خام (درصد ماده خشک)، ADF: الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد ماده خشک)، NDF: الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد ماده خشک)، Hem: همی‌سلولز (درصد ماده خشک)، TDN: کل مواد مغذی قابل‌هضم، NE_L: انرژی خالص برای شیردهی (مگا ژول در کیلوگرم)، NE_g: انرژی خالص برای رشد (مگا ژول در کیلوگرم).

[1] Means within same column with different superscripts are differ ($P<0.05$).

[2] DM: Dry matter; OM: Oeganic matter; CP: Crude protein; ADF: Acid detergent fiber; NDF: Nutral detergent fiber; Hem: Hemycellolode; TDN: Total digestible nutrients; NEl: Net energy for laction; NEg: Net energy for growth.

بیشتر لگوم‌های نواحی گرمسیری حاوی مقادیر کلسیم از ۸/۶ تا ۱۰/۲ گرم بر کیلوگرم ماده خشک هستند (۴۸). روبانزا و همکاران (۴۹) و متیو و همکاران (۴۱) گزارش کردند کلسیم در محدوده بالا (۶/۶–۳۵/۶) گرم بر کیلوگرم ماده خشک است که در پژوهش مورد نظر کلسیم موجود در برگ گونه‌های درختی در محدوده بالایی است. در گونه‌های درختی اغلب نسبت کلسیم به فسفری که بیشتر مورد نیاز دام است توسط روبانزا (۴۸) (۳۱/۵:۱ – ۶/۶:۱) و روبانزا و همکاران (۴۹) (۵۵/۱۱: – ۱۳/۸۱:) گزارش شده است. سطوح فسفر برای اغلب گونه‌های درختی از ۱ تا ۵ گرم بر کیلوگرم ماده خشک اشاره شده است (۴۹، ۴۱) که در مطالعه حاضر از ۰/۶۲ تا ۳/۶۹ به دست آمد.

فنل‌ها و تانن‌ها وقتی که در سطوح پایین (کمتر از ۵ درصد) هستند، مفید هستند؛ زیرا آن‌ها به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه گیاه عمل می‌کنند و پروتئین‌ها را از تخریب بلورین محافظت می‌کنند (۴۳). بر این اساس تانن و فنل موجود در گونه‌های پژوهش حاضر، مفید محسوب می‌شوند. ارتباط بین میزان کل فنول‌ها و کل تانن‌ها در آزمایش حاضر مخالف یافته‌های یوسف‌الهی و همکاران (۶۰) و ماکار و سینگ (۲۷) بود که یک ارتباط مثبت و بالایی را بین میزان کل فنول‌ها و کل تانن‌ها ذکر کرده بودند.

بررسی روند و فراسنجه‌های تولید گاز

نتایج مربوط به فراسنجه‌های تولید گاز برگ درختان مورد مطالعه بدون افزودن پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG) در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که در بین تیمارهای آزمایشی از نظر قابلیت هضم ماده آلی، انرژی قابل متابولیسم و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P<0.05$). بیشترین پتانسیل و نرخ تولید گاز در برگ درخت چلم مشاهده شد (به‌ترتیب ۲۱۴/۹±۱۵/۸۰ میلی‌لیتر و ۴/۳۴±۰/۸۴۴ میلی‌لیتر در ساعت). تمامی تیمارها دارای

زمان تاخیر برای تولید گاز بودند که بیشترین در آزاد و چلم (۱/۲۵±۵/۴۸ و ۰/۸۴۴±۴/۳۴ ساعت) و کمترین در ممرز (۰/۴۴۸-±۲/۰۱۸ ساعت) بود.

نتایج حاصل از فراسنجه‌های تولید گاز برگ درختان آزاد، چلم، نمدار، راش، افرا، بلوط و ممرز با افزودن پلی‌اتیلن‌گلیکول در جدول ۳ نشان داده شده است. افزودن پلی‌اتیلن گلیکول سبب افزایش تولید گاز شد. فراسنجه‌های تولید گاز و تخمینی در میان تیمارها اختلاف معنی‌داری با هم داشتند (P<۰/۰۵). نتایج به‌دست آمده نشان داد که با افزودن پلی‌اتیلن‌گلیکول مقادیر قابلیت هضم ماده آلی، انرژی قابل متابولیسم و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر افزایش یافت.

روند تولید گاز برگ درختان آزاد، چلم، نمدار، راش، افرا، بلوط و ممرز بدون پلی‌اتیلن‌گلایکول در زمان‌های مختلف انکوباسیون در نمودار ۱ نشان داده شده است. تولید گاز در تمامی تیمارها از زمان ۸ ساعت روند افزایشی پیدا کرد. برگ درختان چلم و نمدار بیشترین و برگ درخت راش کمترین روند تولید گاز را داشتند.

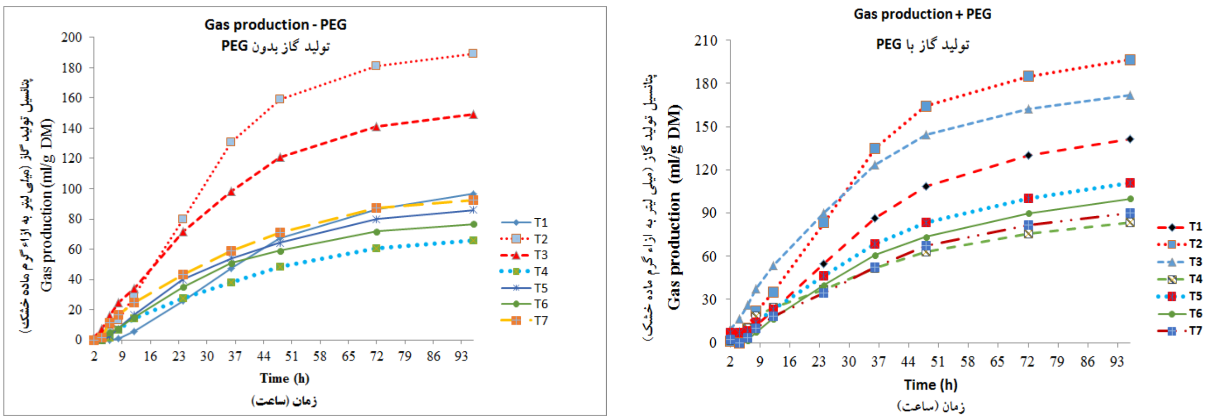
جدول ۲– تعیین مواد معدنی و عوامل ضدتغذیه‌ای در برگ چند گونه درختی (میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک)[۱]

Table 2– Determination of Minerals and anti-nutrition Factors in Leaves of Several Tree Species (mg/kg DM)[1]

Treatments تیمارها	مواد معدنی و عوامل ضدتغذیه‌ای Minerals and anti-nutrition Factors					
	Na سدیم	K پتاسیم	P فسفر	Ca کلسیم	Tannin تانن	Phenol فنل
آزاد *Siberian Elm*	339.46^{f}	25.00^{b}	3.69^{a}	21.00^{a}	0.044^{b}	0.46^{c}
چلم *Lexandrian Laurel*	596.45^{b}	25.84^{b}	2.99^{a}	16.00^{ab}	0.042^{b}	0.55^{b}
نمدار *Linden*	515.65^{c}	5.15^{e}	0.68^{c}	15.00^{b}	0.044^{b}	0.38^{d}
راش *Beech*	377.76^{e}	11.05^{d}	3.50^{a}	14.00^{b}	0.063^{a}	0.37^{d}
افرا *Maple Tree*	406.41^{d}	28.79^{a}	1.19^{bc}	15.00^{b}	0.028^{cd}	0.56^{b}
بلوط *Caucasian oak*	251.71^{g}	11.91^{d}	0.62^{c}	16.00^{ab}	0.018^{d}	0.77^{a}
ممرز *Hornbean*	842.48^{a}	17.45^{c}	1.73^{b}	18.33^{ab}	0.037^{bc}	0.74^{a}
SEM	0.577	0.577	0.317	1.720	0.004	0.021
P-value	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

[۱] میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشابه دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

[1] Means within same column with different superscripts are differ (P<0.05).



شکل ۱- روند تولید گاز برگ درختان مورد مطالعه بدون و با افزودن پلی‌اتیلن گلایکول در زمان‌های مختلف انکوباسیون

تیمارها عبارتند از: T1: آزاد، T2: چلم، T3: نمدار، T4: راش، T5: افرا، T6: بلوط، T7: ممرز

Figure 1- I*n vitro* gas production leaves of the studied trees without and with the addition of polyethylene glycol at different times of incubation.

Treatments: *T1: Siberian Elm, T2: Lexandrian Laurel, T3: Linden, T4: Beech, T5: Maple Tree,T6: Caucasian oak, T7: Hornbean*

روند حجم گاز تولیدی نمونه‌های برگ درختان مختلف همراه با پلی‌اتیلن‌گلایکول در زمان‌های مختلف انکوباسیون در نمودار ۲ ارائه شده است. تولید گاز با استفاده از پلی‌اتیلن‌گلایکول روند افزایشی بیشتری در مقایسه با بدون استفاده از پلی‌اتیلن‌گلایکول داشت. همانند تولیدگاز با پلی‌اتیلن‌گلایکول بیشترین و کمترین روند تولید گاز به‌ترتیب در برگ درخت چلم و راش مشاهده شد.

با توجه به اینکه ارزش غذایی مواد خوراکی و محصولات فرعی همبستگی بسیار بالایی با میزان تولید گاز در ۲۴ ساعت انکوباسیون دارد، لذا بالا بودن تولید گاز در ۲۴ ساعت اولیه دلیل بر بالا بودن ارزش غذایی مواد خوراکی است (۳۵). منک و استینگاس (۳۲) بیان نمودند وقتی که از روش تولید گاز برای تعیین خصوصیات هضمی مواد خوراکی استفاده می‌شود، فرض بر این است که گاز تولیدی تحت تأثیر هیچ عامل دیگری جز ترکیبات شیمیایی و خصوصیات فیزیکی و کربوهیدرات‌هایی که الیاف نامحلول درشوینده خنثی و اسیدی خوراک قرار نمی‌گیرد توسط میکروب‌های شکمبه به آهستگی هضم می‌شوند، میزان و نرخ تولید گاز را کاهش می‌دهند.

ترکیبات ثانویه گیاهان از جمله تانن‌های متراکم بر قابلیت هضم ماده خشک و تولید گاز در ۲۴ ساعت اثر منفی می‌گذارد (۲۲). در آزمایش خزعل و همکاران (۲۲) در زمان استفاده از خوراک‌های حاوی تانن با افزایش زمان انکوباسیون تولید گاز افزایش یافت که همسو با نتایج این پژوهش بود. با افزایش تانن متراکم تولید گاز، تولید متان و تجزیه پروتئین کاهش یافت. تانن‌ها با اتصال به مواد مغذی و مهار میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده الیاف سبب کاهش تخمیر مواد مغذی در شکمبه می‌شوند. پلی‌اتیلن‌گلایکول با اتصال به تانن‌ها اثرات منفی آن‌ها بر میکروارگانیسم‌ها و تخمیر شکمبه را کاهش می‌دهد (۲۵). پلی‌اتیلن‌گلایکول سبب شکستن کمپلکس بین تانن و ماکرومولکول‌ها شده و با اتصال به تانن سبب آزادسازی این مواد و افزایش فراهمی آن‌ها به‌ویژه نیتروژن برای باکتری‌ها می‌شود (۲۵). البته میزان اثر مثبت پلی‌اتیلن‌گلایکول بستگی به فاکتورهایی مانند ساختمان تانن، سطح تانن در علوفه، دوز پلی‌اتیلن‌گلایکول استفاده شده و طریقه استفاده از آن دارد (۹).

مشخص نیست که پلی‌اتیلن‌گلایکول بتواند تمامی تانن‌های موجود در ماده خوراکی را خنثی کند (۲۵). برای مثال در برگ‌های پالم علی‌رغم میزان بالای تانن، استفاده از پلی‌اتیلن‌گلایکول اثر خیلی کمی بر تولید گاز داشت (۶). همچنین پلی‌اتیلن‌گلایکول توانایی کمتری برای کاهش اثر سمی تانن قابل هیدرولیز در مقایسه با تانن متراکم دارد (۳۸). در آزمایش‌هایی که با گیاهان حاوی تانن انجام شده است مقدار تولید گاز با افزایش مقدار تانن کاهش پیداکرده است (۸) که با آزمایش مورد نظر نیز همسو بود و برگ درخت راش که دارای بیشترین تانن بود تولید گاز کمتری داشت.

جدول ۳- فراسنجه‌های تولید گاز برگ درختان با و بدون افزودن پلی اتیلن گلایکول[۱]

Table 3- Gas Production Parameters of Leaves of Trees with and without Adding Polyethylene Glycol[1]

Treatments تیمارها	فراسنجه‌های تولید گاز Gas Production Parameters					
	b (ml) پتانسیل تولید گاز (میلی‌لیتر)	c (ml/h) نرخ تولید گاز (میلی‌لیتر در ساعت)	SCFA (mmol/200 mg DM) اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی مول در ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)	ME (MJ/Kg) انرژی قابل متابولیسم (مگا ژول در کیلوگرم)	OMD (%) قابلیت هضم ماده آلی (درصد)	Delay time (h) زمان تاخیر (ساعت)
بدون پلی‌اتیلن گلایکول						
آزاد Siberian Elm	142.55[c]	0.011[c]	0.11[c]	2.91[c]	19.60[c]	4.85[a]
چلم Lexandrian Laurel	208.45[a]	0.039[a]	0.350[a]	4.38[a]	29.31[a]	3.92[ab]
نمدار Linden	162.50[b]	0.026[b]	0.31[a]	4.15[a]	27.84[a]	2.01[c]
راش Beech	75.18[e]	0.020[b]	0.12[c]	2[c].95	19.90[c]	3.24[b]
افرا Maple Tree	93.84[d]	0.023[b]	0.17[b]	3.29[b]	22.13[b]	3.53[b]
بلوط Caucasian oak	88.34[ed]	0.025[b]	0.15[bc]	3.15[bc]	21.20[bc]	3.32[b]
ممرز Hornbean	150.34[c]	0.025[b]	0.18[b]	3.38[b]	22.70[b]	1.79[c]
SEM	3.42	0.0019	0.016	0.104	0.687	0.340
P-value	<0.001	<0.005	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
با افزودن پلی‌اتیلن گلایکول						
آزاد Siberian Elm	161.1[c]	0.0231[c]	0.30[b]	4.09 [b]	27.39[b]	2.00[b]
چلم Lexandrian Laurel	210.90[a]	0.031[b]	0.46[a]	5 .08 [a]	33.95[a]	3.35[a]
نمدار Linden	177.95[b]	0.037[a]	0.46[a]	5.06[a]	33.84[a]	0.62[c]
راش Beech	87.94[g]	0.027[bc]	0.18[e]	3 .34[e]	22.44[e]	1.14b[c]
افرا Maple Tree	122.95[d]	0.024[c]	0.24[c]	3.74[c]	25.13[c]	1.42b[c]
بلوط Caucasian oak	110.65[e]	0.024[c]	0.21[d]	3.56[d]	23.90[d]	3.51[a]
ممرز Hornbean	101.75[f]	0.025[c]	0.177[e]	3.31[e]	22.25[e]	3.02[a]
SEM	2.39	0.001	0.008	0.052	0.348	0.275
P-value	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.004

[۱]میانگین‌های هر ستون با حروف غیرمشابه دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

[1]Means within same column with different superscripts are differ (P<0.05).

طی پژوهشی یوسف الهی و همکاران (۶۰) که در آزمون تولید گاز از ۷۵۰ میلی‌گرم پلی‌اتیلن‌گلایکول برای بررسی اثر مرحله رشد برگ کهور بر تولید گاز و ثابت نرخ تولید گاز استفاده شده بود. افزودن پلی‌اتیلن‌گلایکول به محیط کشت سبب افزایش تولید گاز شد. در آزمایش مالدار و همکاران (۲۸) تولید گاز برگ بلوط در زمان استفاده از پلی اتیلن‌گلایکول و در آزمایش کامالاک و همکاران (۲۰) تولید گاز با افزایش زمان انکوباسیون افزایش یافت. بشارتی و تقی‌زاده (۱۰) در ساعات اولیه انکوباسیون از لحاظ تولید گاز اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نکردند اما از لحاظ عددی تولید گاز تفاله انار بدون استفاده از پلی‌اتیلن‌گلایکول از تولید گاز تفاله انار به همراه ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم پلی‌اتیلن گلایکول بالاتر بود. اما در مطالعه مورد نظر با افزودن پلی‌اتیلن‌گلایکول تولید گاز افزایش یافت.

در توافق با پژوهش حاضر مالدار و همکاران (۲۸) گزارش کردند استفاده از پلی اتیلن گلایکول سبب بهبود فراسنجه‌های تولید گاز برگ بلوط شد. حسن‌سلام و همکاران (۱۸) گزارش کردند که بین قابلیت هضم ماده آلی در روش تولید گاز و میزان ترکیبات فنولی رابطه منفی وجود دارد و با افزایش ترکیبات فنولی میزان قابلیت هضم خوراک کاهش می‌یابد. با توجه به این که بیشتر گاز در اثر تخمیر کربوهیدرات‌ها تولید می‌شود (۲۶)، یوسف‌الهی و همکاران (۶۰) بیان کردند استفاده از پلی اتیلن گلایکول سبب افزایش انرژی قابل متابولیسم و قابلیت هضم ماده آلی برگ کهور در مراحل مختلف رشد شد که موافق با مطالعه مورد نظر بود.

تعیین قابلیت هضم و فراسنجه‌های تخمیری برگ چندگونه درختی بدون و با افزودن پلی‌اتیلن گلایکول

بررسی قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی، نیتروژن آمونیاکی، pH و فراسنجه‌های تخمیری برگ چند گونه درختی در جدول ۴ ارائه شده است. به‌طور کلی نتایج نشان داد که فاکتورهای بررسی شده بین تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار بوده است (P<۰/۰۵). در پژوهش حاضر، بیشترین گوارش‌پذیری ماده خشک و ماده آلی مربوط به تیمار نمداربود (به‌ترتیب: ۴۳/۸۶ و ۵۳/۴۳ درصد).

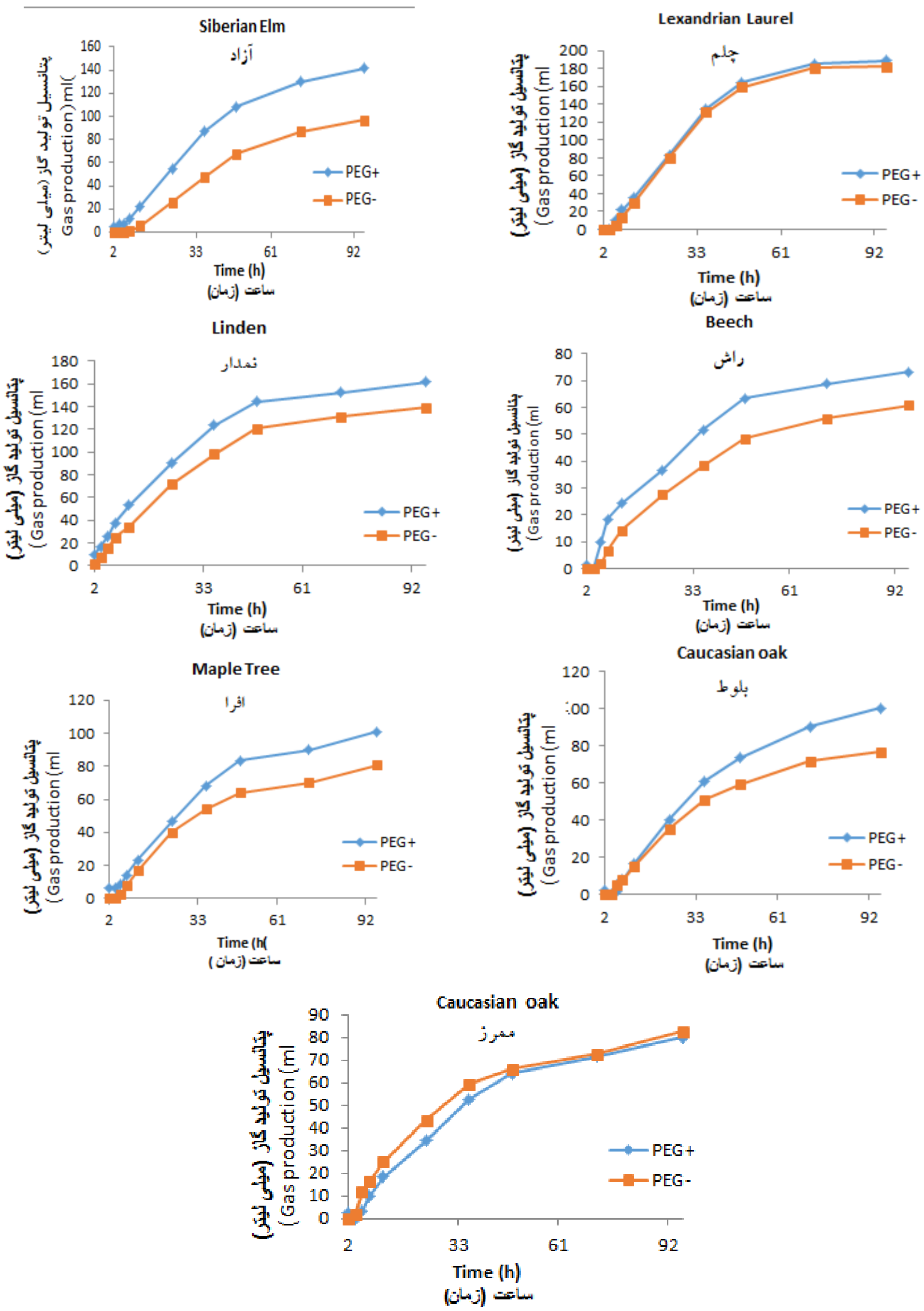
مقدار نیتروژن آمونیاکی نمونه‌های برگ چند گونه درختی در محدوده ۱/۴۵ تا ۲/۷۷ میلی‌گرم در دسی‌لیتر به‌دست آمد. در این پژوهش pH در محدوده ۶/۸۹ تا ۷/۳۵ به‌دست آمد (P<۰/۰۵). که بیشترین مقدار مربوطبه برگ درخت ممرز و آزاد و کمترین مقدار در برگ درخت چلم و نمدار بود (به‌ترتیب: ۷/۳۵، ۷/۳۱، ۷/۰۳ و ۶/۸۹).

در پژوهش حاضر، میزان عامل تفکیک ۴۶/ ۲۱-۴۰/ ۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به‌دست آمد. بیشترین میزان در تیمار راش مشاهده شد. نتایج مقایسه میانگین نشان داد بازده تولید گاز برگ درختان آزاد، چلم، نمدار، راش، افرا، بلوط و ممرز به‌ترتیب ۹۹/۸۶، ۱۸۳/۷۳، ۱۶۹/۵۰، ۵۹/۰۳، ۱۰۴/۸۰، ۸۸/۷۰ و ۱۰۱/۴۶ میلی‌لیتربر گرم ماده خشک بود (P<۰/۰۵). تیمارهای نمدار و افرا بیشترین توده میکروبی (به‌ترتیب ۱۸۲/۷۳ و ۱۸۵/۴۶ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) و تیمار راش بیشترین بازده توده میکروبی تولید شده (۰/۸۹۵) در پایان ۲۴ ساعت انکوباسیون داشتند (P<۰/۰۵).

قابلیت هضم، نیتروژن آمونیاکی، pH و فراسنجه‌های تخمیری برگ درختان آزاد، چلم، نمدار، راش، افرا، بلوط و ممرز با استفاده از پلی‌اتیلن‌گلایکول در جدول ۴ ارائه شده است. به‌طور کلی اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود داشت (P<۰/۰۵). همانند نمونه‌های بدون استفاده از پلی‌اتیلن‌گلایکول تیمار نمدار بیشترین مقدار قابلیت هضم برون‌تنی ماده خشک و ماده آلی نمونه‌های برگ داشت (به ترتیب ۴۳/۸۶ و ۵۷/۶۹ درصد ماده خشک).

مقدار نیتروژن آمونیاکی نمونه‌های برگ چند گونه درختی در محدوده ۱/۲۲ تا ۲/۴۱ میلی‌گرم در دسی‌لیتر به‌دست آمد. در این پژوهش pH در محدوده ۷/۰۰ تا ۷/۴۱ به‌دست آمد که با افزودن پلی‌اتیلن‌گلایکول مقدار نیتروژن آمونیاکی کاهش و pH افزایش پیدا کرد (P<۰/۰۵).

میزان عامل تفکیک نمونه‌های برگ درختان با افزودن پلی‌اتیلن‌گلایکول ۶۱/۹-۴/۸۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به‌دست آمد. با افزودن پلی‌اتیلن‌گلایکول عامل تفکیک کاهش مشهودی یافت (P<۰/۰۵). کمترین مقدار عامل تفکیک در تیمار چلم مشاهده گردید (۸۱/-۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر). نتایج مقایسه میانگین نشان داد افزودن پلی‌اتیلن‌گلایکول باعث افزایش قابل ملاحظه‌ای بازده تولید گاز پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون تمام تیمارها شدند (P<۰/۰۵). کمترین مقدار این صفت در تیمار بلوط مشاهده گردید (۲۵/ ۱۳۱ میلی‌لیتر). استفاده از پلی‌اتیلن‌گلایکول باعث کاهش توده میکروبی و بازده توده میکروبی تولید شده در پایان ۲۴ ساعت انکوباسیون شد (P<۰/۰۵).



شکل ۲- مقایسه تاثیر استفاده از پلی‌اتیلن گلایکول بر روند تولید گاز برگ درختان مختلف

Figure 2- Comparison of the effect of polyethylene glycol on *in vitro* gas production leaves of different trees

جدول ٤- تعیین قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی، نیتروژن آمونیاکی، pH و فراسنجه‌های تخمیری برگ چند گونه درختی

Table 4- Determination of digestibility of dry matter and organic matter digestibility, ammoniacal nitrogen, pH and estimated parameters of some Several Tree Species

Treatment تیمارها	DMD (%) قابلیت هضم ماده خشک (درصد)	OMD (%) قابلیت هضم ماده آلی (درصد)	NH_3-N (mg/dl) نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم بر دسی لیتر)	pH محیط شکمبه	PF (mg/ml) عامل تفکیک (میلی‌گرم برمیلی لیتر)	Gas yield(ml) بازده تولید گاز (میلی‌لیتر بر گرم ماده خشک)	MB (mg/gDM) توده میکروبی تولید شده (میلی‌گرم بر گرم ماده خشک)	EMB بازده تولید میکروبی پایان۲۴ساعت انکوباسیون
بدون پلی‌اتیلن گلایکول								
آزاد Siberian Elm	26.26^{d}	34.90^{c}	1.95^{ab}	7.31^{a}	13.76^{bc}	99.86^{b}	144.86^{b}	0.83^{bc}
چلم Lexandrian Laurel	38.46^{ab}	45.50^{b}	1.90^{ab}	7.03^{bc}	6.40^{d}	183.73^{a}	148.36^{b}	0.65^{f}
نمدار Linden	43.86^{a}	53.43^{a}	2.77^{a}	6.89^{c}	7.10^{d}	169.50^{a}	182.73^{a}	0.69^{e}
راش Beech	23.40^{d}	28.93^{d}	1.66^{ab}	7.07^{b}	21.46^{a}	59.03^{c}	128.50^{c}	0.89^{a}
افرا Maple Tree	34.06^{bc}	45.43^{b}	1.45^{b}	7.09^{b}	12.70^{bc}	104.80^{b}	185.46^{a}	0.82^{cd}
بلوط Caucasian oak	25.20^{d}	33.26^{c}	1.60^{ab}	7.15^{b}	15.00^{b}	88.70^{b}	142.90^{b}	0.85^{b}
ممرز Hornbean	29.46^{cd}	33.56^{c}	2.24^{ab}	7.35^{a}	11.76^{c}	101.46^{b}	139.63^{bc}	0.81^{d}
SEM	2.21	0.844	0.363	0.047	0.927	8.27	4.19	0 .007
P-value	<0.0001	<0.0001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
با افزودن پلی اتیلن گلایکول								
آزاد Siberian Elm	25.73^{d}	38/90^{d}	2.41^{a}	7.32	7.97^{b}	192.02^{abcd}	139.19^{c}	0.72^{b}
چلم Lexandrian Laurel	47.16^{b}	37.80^{b}	2.03^{ab}	7.13	4.81^{d}	259.46^{a}	127.37^{cd}	0.54^{d}
نمدار Linden	57.69^{a}	43.86^{a}	1.84^{ab}	7.11	6.16^{c}	211.95^{abc}	183.56^{a}	0.64^{c}
راش Beech	42.73^{c}	31.93^{c}	1.22^{b}	7.41	9.03^{ab}	230.18^{ab}	84.38^{c}	0.75^{ab}
افرا Maple Tree	43.08^{c}	27.46^{cd}	1.53^{ab}	7.00	8.88^{ab}	175.32^{bcd}	159.86^{b}	0.75^{ab}
بلوط Caucasian oak	34.73^{c}	27.46^{cd}	1.51^{ab}	7.02	9.61^{a}	131.25^{d}	133.18^{cd}	0.77^{a}
ممرز Hornbean	31.55^{f}	23.60^{d}	1.64^{ab}	7.20	8.92^{ab}	149.59^{cd}	118.02^{d}	0.75^{ab}
SEM	0.999	1.85	0.027	0.071	0.397	22.81	4.87	0.012
P-value	<0.0001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

در هر ستون، اعداد با حروف غیرمشابه از لحاظ آماری با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۵).

Means within same column with different superscripts are differ (P<0.05).

تحقیقات نشان داد که هنگام مصرف علوفه‌های حاوی تانن، غلظت نیتروژن غیر آمونیاکی وارد شده به رودهٔ باریک بیشتر از نیتروژن مصرفی بوده است و بخشی از آن را به افزایش تولید پروتئین میکروبی نسبت می دهند (۴). وجود منابع تانن‌دار در خوراک باعث افزایش عامل تفکیک و پروتئین میکروبی شده که این امر را یک اثر مثبت بر تغذیهٔ پروتئین توسط دام دانسته‌اند، به‌طوری که سهم بیشتری از مواد هضم شده صرف تولید پروتئین میکروبی می شود تا اینکه تخمیر شده و برای تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر استفاده شود (۴). در آزمایشی با افزایش سطح برگ بلوط به عنوان منبع تانن‌دار در جیرهٔ گاو غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه کاهش یافت، دلیل آن می‌تواند تشکیل کمپلکس تانن_پروتئین باشد که باعث کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه و در نتیجه کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شد (۱۴). تانن‌ها بر رشد باکتری‌های پروتئولیتیک که غذای پروتوزوآ هستند، تأثیر منفی دارند. بنابراین کاهش رشد این باکتری‌ها باعث کاهش جمعیت پروتوزوآیی شکمبه و در نتیجه کاهش عامل تفکیک می‌شود (۳۶).

مارتین‌گارسیا و همکاران (۳۰) گزارش کردند که استفاده از پلی‌اتیلن‌گلیکول در محیط کشت حاوی برگ زیتون غلظت نیتروژن آمونیاکی را کاهش داد. زمانی و همکاران (۶۱) اثر سطوح مختلف پلی‌اتیلن‌گلایکول (صفر، ۲۵۰، ۳۷۵ و ۵۰۰ میلی‌گرم) به‌ازای ۰/۵ ماده خشک نمونه برالگوی تخمیر میوه بلوط ایرانی در شرایط آزمایشگاه را بررسی کردند. غلظت کل اسیدهای چرب فرار و نیتروژن آمونیاکی و pH تحت تاثیر پلی‌اتیلن‌گلایکول قرار نگرفت. در آزمایش مالدار و همکاران (۲۸) غلظت آمونیاک و pH مایع شکمبه بزهای الموت با مصرف برگ بلوط کاهش معنی‌داری یافت اما در دامنه طبیعی قرار داشت. بشارتی و تقی‌زاده (۱۰) اثر سطوح مختلف (۷۵، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم) پلی‌اتیلن‌گلایکول بر تخمیر ۳۰۰ میلی‌گرم تفاله انار را با روش تولید گاز بررسی کردند. پلی‌اتیلن‌گلیکول باعث افزایش معنی‌داری در نرخ و مقدار تولید آمونیاک شد.

در آزمایش آقا محمدی و همکاران (۲) میوه بلوط سبب کاهش نیتروژن آمونیاکی، pH شکمبه و کل اسیدهای چرب فرار مایع شکمبه گوسفندان سنجابی شد و استفاده از پلی‌اتیلن‌گلایکول سبب بهبود این فراسنجه‌ها شد. همسو با نتایج پژوهش حاضر، کاهش غلظت آمونیاک مایع شکمبه در اثر تانن‌ها توسط دیگر محققین نیزگزارش شده است (۱۱، ۵۳). دوسه و همکاران (۱۴) بیان کردند که با افزایش سطح برگ بلوط در جیره گاو غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه کاهش یافت. در حالی که یلدیز و همکاران (۵۸) نشان دادند که مصرف برگ بلوط تاثیر معنی‌داری بر غلظت آمونیاک مایع شکمبه نداشت هر چند با افزایش سطح برگ بلوط در جیره غلظت آمونیاک تمایل به کاهش داشت. آمونیاک مایع شکمبه از دآمیناسیون پروتئین‌ها و ترکیبات نیتروژن‌دار غیر پروتئینی جیره منشاء می‌گیرد (۱۹). دامنه غلظت بهینه آمونیاک شکمبه ۸/۵ تا ۳۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر مایع شکمبه می‌باشد (۳۲) و حداقل غلظت مناسب آمونیاک برای رشد بهینه میکروب‌های شکمبه، ۵ میلی‌گرم در دسی لیتر مایع شکمبه می‌باشد (۱۶). کاهش غلظت آمونیاک در برخی گیاهان تانن‌دار می‌تواند به دلیل تشکیل کمپلکس پروتئین-تانن، مهار فعالیت دی آمیناز میکروبی توسط تانن قابل هیدرولیز (۵۳) و کاهش رشد باکتری‌های پروتئولایتیک باشد (۳۷). این امر می‌تواند مثبت باشد؛ زیرا باکتری‌های تولید کننده مقدار بالای آمونیاک تنها یک درصد از جمعیت باکتری‌های شکمبه را تشکیل می‌دهند اما فعالیت دآمیناسیون بالایی دارند و مهار این باکتری‌ها به وسیله ترکیبات ثانویه گیاهی با افزایش بازده استفاده از پروتئین و کاهش تولید آمونیاک در شکمبه از نظر تغذیه‌ای سودمند می‌باشد (۴۵).

مقدار pH طبیعی شکمبه در دامنه ۶/۱ تا ۶/۹ قرار دارد (۳۲). مقادیر pH در پژوهش ما بالا بود که می‌تواند به بالا بودن نیتروژن امونیاکی و نسبت بافر استفاده شده، نسبت داده شود. پژوهشگران گزارش کرده‌اند که خوراک‌های حاوی تانن اثری بر میزان pH شکمبه ندارند (۱۱، ۵۸). افزایش غلظت کل اسیدهای چرب فرار در زمان استفاده از پلی‌اتیلن‌گلایکول را می‌توان به کاهش اثرات منفی تانن بر میکروارگانیسمها و بالاتر بدون قابلیت هضم ماده آلی ارتباط داد (۲۵).

محققان یکی از دلایل بهبود عامل تفکیک، تولید توده میکروبی و راندمان سنتز توده میکروبی در جیره‌ها را به سطح بالای پروتئین نسبت دادند. در واقع پروتئین‌ها می‌توانند اثر مثبت روی فعالیت میکروبی و هضم خوراک داشته باشند (۵۵). محققین مشاهده کردند که قابلیت هضم و تولید گاز برگ سوبابل با افزودن پلی‌اتیلن‌گلایکول افزایش یافته و علت را شکسته شدن باندهای بین مواد مغذی و تانن بیان کرد ند (۲۴). کم بودن عامل تفکیک نشان می‌دهد ماده آلی بیشتر به گاز و اسید چرب فرار تبدیل شده و کمتر تولید توده میکروبی کرده است. معمولا خوراک های حاوی تانن، دارای عامل تفکیک بیشتری می‌باشند که از علل آن حل شدن تانن خوراک در طول تخمیر و کاهش ماده خشک بدون شرکت در تولید گاز یا سنتز پروتئین میکروبی می‌باشد (۲۳). بیونو و همکاران (۱۳) مشاهده کردند قابلیت هضم ماده خشک در جیره مکمل شده با برگ در بزغاله‌ها تا حد زیادی افزایش یافته است.

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی، نتایج نشان داد که برگ گونه‌های مختلف درختی از نظر مقدار ترکیبات شیمیایی و مواد معدنی متفاوت بودند. از نظر فراسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم و مولفه‌های تخمیری بین گونه‌های مختلف مود مطالعه اختلاف معنی‌داری وجود داشت. افزودن پلی‌اتیلن‌گلایکول باعث افزایش تولید گاز، فراسنجه‌های تخمیری و

کاهش عامل تفکیک و نیتروژن آمونیاکی گردید. نکته قابل ملاحظه از نظر تغذیه بالا بودن مقدار پروتئین خام در اکثر گونه‌ها و مقدار متوسط در گونه‌های بلوط و ممرز بود. با توجه به اینکه حداقل نیاز نیتروژنی حیوانات نشخوارکننده، که حدود ۸ درصد می‌باشد، و با توجه به بالا بودن قابلیت هضم و پتانسیل تولید گاز آنها می‌توان نتیجه گرفت که این گونه‌ها می توانند به عنوان مکمل پروتئینی در جیره نشخوارکنندگان هنگام تغذیه با خوراک‌ها و علوفه‌های با کیفیت پایین مانند کاه‌ها، ساقه‌ها و بقایای کشاورزی کم کیفیت استفاد کرد.

منابع

1- Abdulrazak, S. A., T. Fujihara, T. Ondiek, and E. R. Orskov. 2000. Nutritive evaluation of some Acacia from Kenya. Animal Feed Science and Technology, 85: 89-98.

2- Aghamohamadi, N., F. Hozhabri, A. Dariush, and S. Y. Mousavi. 2012. The influence of oak acorn (Quercus persica) on *in vivo* nutrient digestibility and rumen fermentation parameters in sanjabi sheep. 5th Iranian Animal Sciences congress. University of Isfahan. (In Persian).

3- Ali-Ehyaii, M., and A. Behbahani Zadeh. 2014. Description of Soil Chemical Analysis Methods. Soil and Water Research Institute. Number 892. (In Persian).

4- Angaji, L., M. Souri, and M. Moeini. 2011. Deactivation of tannins in raisin stalk by polyethylene glycol-600: Effect on degradation and gas production in vitro. African Journal of Biotechnology, 10 (21), 4478-4483.

5- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2005. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC. USA.

6- Arhab, R., D. Macheboeuf, M. Aggoun, H. Bousseboua, D. Viala, and J. M. Besle. 2009. Effect of polyethylene glycol on in vitro gas production and digestibility of tannin containing feedstuffs from North African arid zone. Tropical and Subtropical Agroecosystem, 10: 475-486.

7- Arzani, H. 2010. Forage quality.1th. Tehran university publisher, pp 329.

8- Bagheripour, E., Y. Rouzbehan, and D. Alipour. 2008. Effects of ensiling, air-drying and addition of polyethylene glycol on *in vitro* gas production of pistachio by-products. Animal Feed Science and Technology, 146: 327–336. (In Persian).

9- Ben Salem, H., I. Ben Salem, and M. S. Ben Saïd. 2005. Effect of the level and frequency of PEG supply on intake, digestion, biochemical and clinical parameters by goats given Kermes oak (Quercus coccifera L.)-based diets. Small Ruminant Research, 56:127-137.

10- Besharati, M., and Taghizadeh, A. 2012. Effect of using different level of polyethylene glycol on *in vitro* gas production of pomegranate pomace. 5th Iranian Animal Sciences congress. University of Isfahan. (In Persian).

11- Bhatta, R., S. Vaithiyanathan, N. P. Singh, A. K. Shinde, and D. L. Verma. 2005. Effect of feeding tree leaves as supplements on the nutrient digestion and rumen fermentation pattern in sheep grazing semi-arid range of India. Small Ruminant Research, 60: 273–280.

12- Broderick, G. A., and J. H. Kang. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. Journal of Animal Science, 63: 64-75.

13- Bueno, I. C., S. L. Cabral Filho, S. P. Gobbo, H. Louvandini, D. M. Vitti, and A. L. Abdalla. 2005. Influence of inoculum source in a gas production method. Animal Feed Science and Technology, 123: 95-105.

14- Doce, R. R., G. Hervás, A. Belenguer, P. G. Toral, F. J. Giráldez, and P. Frutos. 2009. Effect of the administration of young oak (*Quercus pyrenaica*) leaves to cattle on ruminal fermentation. Animal Feed Science and Technology, 150: 75-85.

15- Farzane, A. and R. Bayani. 2005. Produce digital maps of forest cover. 28:1-12.

16- Fattahnia, F.1390. Biochemistry in animal nutrition. University of Ilam. pp. 321.

17- Getachew, G., M. Blummel, H. Makkar, and K. Becker. 1998. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: A review. Animal Feed Science and Technology, 72: 261-281.

18- Hassan Sallam, S. M. A., I. C. Da Silva Bueno, P. B. De Godoy, F. N. Eduardo, D. M. S. Schmidt Vittib, and A. L. Abdalla. 2010. Ruminal fermentation and tannins bioactivity of some browses using a semi-automated gas production technique. Tropical and Subtropical Agro ecosystem, 12: 1 – 10.

19- Hristov, A. N., and J. K. Ropp. 2003. Effect of dietary carbohydrate composition and availability on utilization of ruminal ammonia nitrogen for milk protein synthesis in dairy cows. Journal of Dairy Science, 86: 2416–2427.

20- Kamalak, A., O. Canbolat, O. Ozay, and S. Aktas. 2004. Nutritive value oak (Quercus spp.) leave. Small Ruminant Research, 53:161-165.

21- Khalil, J. K., W. N. Saxay, and S. Z. Heyder. 1986. Nutrient composition of *Atriplex* leaves growing in Saudi Arabia. Journal of Range Management, 39 (2): 104-107.

22- Khazaal, K., J. Boza, and E. R. Orskov. 1994. Assessment of phenolics-related anti-nutritive effects in Mediterranean browse: a comparison between the use of the *in vitro* gas production technique with or without

insoluble polyvinyl polypyrrolidone or nylon bag. Journal Animal Feed Science and Technology, 49: 133–149.
23- Khoramzadeh, L., T. Mohammadabadi, M. Mamouei, M. Chaji, and M. Sari. 2017. The Comparison of Degradability, Digestion and Microbial Fermentation of Siris Leaves or Silk Tree Instead of the Alfalfa in Cow and Buffalo of Khuzestan. Iranian Journal of Animal Science Research, 8(4): 602-615. (In Persian).
24- Kumar, A., A. K. Saluja, U. D. Shah, and A. V. Mayavanshi. 2007. Pharmacological potentioal of Albizzia lebbeck: a Review. Pharmacognosy Reviews, 1(1):171-174.
25- Makkar, H. P. S. 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. Small Ruminant Research, 49: 241–256.
26- Makkar, H. P. S. 2010. *In vitro* screening of feed resources for efficiency of microbial protein synthesis. In: Vercoe, P. E., H. P. S. Makkar., A. C.Schlink. (Eds.), *In vitro* Screening of Plant Resources for Extra-Nutritional Attributes in Ruminants: Nuclear and Related Methodologies. IAEA, Dordrecht, the Netherlands, pp. 107–144.
27- Makkar, H. P. S. and B. Singh. 1993. Effect of storage and urea addition on detanification and in sacco dry matter digestibility of mature oak (Quercus incana) leaves. Animal Feed Science and Technology, 41: 247-259.
28- Maldar, S. M., Y. Roozbehan, D. A. 2010. The Effect of Adaptation to Oak Leaves on Digestibility (*in vitro*) and Ruminal Parameters in Alamout Goat. Iranian journal of animal science, 41(3): 243-252. (In Persian).
29- Malick, C. P. and M. B. Singh. 1980. In plant Enzymology and Histo Enzymology, Kalyani Publishers, New Dehli. p. 286
30- Martın Garcıa, I., D. Yanez Ruiz, A. Moumen, and E. Molina Alcaide. 2006. Effect of polyethylene glycol, urea and sunflower meal on olive (*Olea europaea* var. *europaea)* leaf fermentation in continuous fermentors. Small Ruminant Research, 61: 53-61.
31- Mashayekhi, K., and S. Atashi. 2016. Guide to Plant Physiology Experiments (Pre- and Post-harvest Surveys). Agricultural Education Research. Tehran. pp 199.
32- McDonald, P., R. A. Edwards, J. F. D. Greenhalgh, and C. A. Morgan. 1995. Animal Nutrition. 5th Edition. Oliver and Boyd Publishers (UK), pp. 607.
33- Menke, K. H. and H. Steingass. 1978. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Animal Science Development, 28: 7-12.
34- Menke, K. H., L. Raab, A. Solewski, H. Steingass, D. Fritz, and W. Schneider. 1979. The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. Journal of Agriculture Science, 93: 217-222.
35- Menke, K. H. and H. Steingass. 1988. Estimation of energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Journal of Animal Research and Development, 28: 7-55.
36- Min, B. R., W. C. McNabb, P. D. Kemp, M. F. McDoland, and T. N. Barry. 2001. The effect of condensed tannins in Lotus corniculatus upon reproductive efficiency and wool production in ewes during autumn. Animal Feed Science and Technology, 92: 185–202.
37- Min, B. R., W. E. Pinchak, J. D. Fulfordand, R. Puchala. 2005. Effect of feed additives on in vitro and in vivo rumen characteristics and frothy bloat dynamics in steers grazing wheat pasture. Animal Feed Science and Technology, 123: 615–629.
38- Mlambo, V., J. L. N. Sikosana, F. L. Mould, T. Smith, E. Owen, and I. Mueller-Harvey. 2007. The effectiveness of adapted rumen fluid versus PEG to ferment tannin-containing substrates *in vitro*. Animal Feed Science and Technology, 136: 128-136.
39- Moghadam, M. R. 1998. Range and Range management. Tehran university publisher, First Edition, 470pp. (In Persian)
40- Molina-alcaide, E., A. I. Martín-garcía, A. Moumen, and M. D. Carro. 2010. Ruminal fermentation, microbial growth and amino acid flow in single-flow continuous culture fermenters fed a diet containing olive leaves. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 94:227-36.
41- Mtui, D. J., F. P. Lekule, M. N. Shem, T. Ichinohe, and T. Fujihara. 2009. Comparative potential nutritive value of grasses, creeping legumes and multipurpose trees commonly in sub humid region in the Eastern parts of Tanzania. Livestock Research for Rural Development, 21 (10). http://www.lrrd.org/lrrd21/10/mtui21158.htm.
42- Orskov, E. R., and I. M. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. Journal of Agriculture Science, 92:499-503.
43- Osuji, P. O., and A. A. Odenyo, 1997. The role of legume forage as supplements to low quality roughage-ILRI experience. Animal Feed Science and Technology, 69: 27-38.
44- Pal, D.T., K. M. Bujarbaruch, S. K. Mondal, and D. N. Kamra. 2002. Nutrient utilization of Mithun (Bos frontalis) calves on tree leaves feeding. Indian Journal of Animal Nutrition, 19(1): 87-89.
45- Patra, A. K. 2011. Effects of essential oils on rumen fermentation, microbial ecology and ruminant production. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances, 6: 416-428.
46- Rajendiran, A.S. and R. Kadirvel. 2002. Nutritive value of Casuarina leaves (Cladode) for goats. Indian Journal of Animal Nutrition, 19 (1): 18-24.
47- Rubanza, C .D .K., M. N. Shem, R. Otsyina, and T. Fujihara. 2007. Performance of Zebu steers grazing on western

Tanzania native forages supplemented with Leucaena leucocephala leaf meal. Agroforestry Systems, 65(3):165-174
48- Rubanza, C. D. K. 2005. Studies on utilization of browse tree fodder supplements to ruminants fed on low quality roughages in north-western Tanzania. PhD Thesis. Tottori University, Japan. pp. 44-47.
49- Rubanza, C. D. K., M. N. Shem, T. Ichinohe, and T. Fujihara. 2006. Polyphenolics and mineral composition of selected browse tree species leaves native to north western Tanzania traditional fodder banks, Journal of Food, Agriculture and Environment, 4(1): 328-332.
50- Sanon, H., O. Kabore, and C. Zoungrana. 2007. Behavior of goats, sheep and cattle and their selection of browse species on natural pasture in a Sahelian area. Small Ruminant Research, 67: 64-74.
51- SAS .2000. SAS User's Guide: Statistics, Version 9.1 Edition. SAS Institute, Cary, NC, USA.
52- Seeram, N. P., Y. Zhang, D. Reed, C. G. J. Krueger, and J. Vaya. 2006. Pomegranate phytochemicals. CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL.
53- Sliwiniski, B. J., C. R. Soliva, A. Machmuller, and M. Kreuzer. 2002. Effects of plant rich in secondary constituents modify rumen fermentation. Animal Feed Science and Technology, 72: 183-187.
54- Theodorou, M. K., B. A. Williams, M. S. Dhanoa, A. B. McAllan, and J. France. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology, 48: 185-97.
55- Tilley, J. M. A., and R. A. Terry. 1963. A two stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. Journal of British Grassland Society, 18:104-110.
56- Van Soest, P. J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. (Comstock Publishing Associated, a division of Cornell University Press: Ithaca, NY, USA).
57- Waghorn, G. 2008. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production- progress and challenges. Animal Feed Science and Technology, 147: 116-139.
58- Yildiz, S., I. Kaya, Y. Unal, D. Aksu Elmali, S. Kaya, M. Censiz, M. Kaya, and A. Oncuer. 2005. Digestion and body weight change in Tuj lambs receiving Oak (Quercus hartwissiana) leaves with and without PEG. Animal Feed Science and Technology, 122: 159-172.
59- Yousef Elahi, M., and Y. Rouzbehan. 2008. Characteriztion of *quercus persica ,quercus infectoria* and *quercus libani* as ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology, 140: 78-89.
60- Yousef Elahi, M., M. Z. M. Moslemi Nia, A. Salem, H. Mansouri, J. A. Olivares-Perez, M. E. Cerrillo-Soto, and A. Kholif. 2014. Effect of poly ethylene glycol on *in vitro* gas production kinetics of Prosopis cineraria leaves at different growth stages. Italian Journal of Animal Science, 13: 3175.
61- Zamani, O., F. Hozhabri, and F. Kafilzadeh. 2012. Effect of polyethylene glycol on *in vitro* rumen fermentation parameters of acorns (Quercus infectoria). 5th Iranian Animal Sciences congress. University of Isfahan. 21-25

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 13, No. 1, Spring 2021, p. 91-107

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۳، شماره ۱ بهار ۱۴۰۰، ص. ۱۰۷-۹۱

Determination of chemical composition, gas production parameters and digestibility of leaves from several tree species (with and without polyethylene glycol) used in livestock feeding

Ruhollah Shahraki[1], Javad Bayat Kouhsar[*2], Farzad Ghanbari[2], Abolfazl Daneshvar [3]

Submitted: 28-10-2019
Accepted: 21-04-2020

Introduction Lack of nutritional resources, especially in harsh conditions, is one of the major problems in the livestock and poultry industry. North of Iran due to its rich natural resources of native tree species and shrubs (50 tree and 80 shrubs) and annually significant amount of afforestation in cities, public places and natural areas, if they managed for animal feeding, can be an appropriate option for preparing a ration to feed the animals. Despite this capability, there is little information on the nutritional value of many tree and shrub species in the northern of the country. By targeting this approach in the researches, it is possible to manage natural resources and direct forestry to specific species. In this case, an effective step will be taken to manage the country's multifunctional forestry and it is also possible to diversify the countries livestock nutrition. The aim of this study was to determine the chemical composition, gas production parameters and detestability characteristics of leaves from several tree species used in livestock feeding in a Completely Randomized Design (7 treatments and 3 replicates).

Materials and Methods Samples of commonly available seven species of forest tree leaves (*Siberian Elm, Lexandrian Laurel, Linden, Beech, Maple Tree, Caucasian oak* and *Hornbean*) were collected from different locations of Shast-Klateh Forest of Golestan province, Gorgan. Gorgan is located in 36º 45´ N, 54º 21´ E. The mean annual rainfall is 649 mm. Samples were taken and air dried at 60 °C for 48 h and milled to pass a 1 and 1.5 mm screen. In this study, effects of adding polyethylene powder glycol (twice the weight of the sample, Merck, MW=-6000) was evaluated. Their nutritional value was evaluated through determination of chemical compositions and *in vitro* gas production techniques. Samples were tested in an *in vitro* gas production method (96 h incubation) and batch rumen culture system (24 h incubation). Rumen fluid was collected before the morning feed from three fistulated Dalagh male sheep (43 ± 1.5 kg live weight fed on a forage diet at a concentration of 40:60). *In vitro* gas production was measured in triplicate and for each replicate, a sample of 200 mg DM were used. The bottles were then filled with 30 ml of incubation medium that consisted of 10 ml of rumen fluid plus 20 ml of buffer solution and placed in a water bath at 39 °C. Gas production was recorded at 2, 4, 8, 16, 24, 48, 72 and 96 h. Total gas values corrected for blank incubation and gas values expressed in ml g^{-1} of DM. The asymptotic gas production system (A) and rate of gas production (c), organic matter digestibility (OMD), metabolizable energy (ME) and short chain fatty acids (SCFA). A medium similar to one developed for gas production was used for batch rumen culture system to measure pH, and NH_3-N and in vitro digestibility. The pH of the media was measured after 24 h incubation. After 24 h incubation, the contents of each glass bottle were empty, strained through four layers of cheesecloth and then 10 ml of strained rumen fluid was acidified by 10 ml of 0.2 N HCl for determination of NH_3-N using the distillation method. Finally, all contents remaining in the bottles were filtered through nylon bags, oven dried at 60 °C for 48 h and analyzed for IVDMD and IVOMD.

1- M.Sc. Graduated Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University. Gonbad Kavous, Iran
2- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University. Gonbad Kavous, Iran
3-Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Science, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran
* Corresponding author: Email: javad_bayat@yahoo.com
Doi:10.22067/ijasr.v13i1.83977

Results and Discussion The results showed that the chemical composition of leaves of trees varied significantly among species. *Maple tree* had highest (1.27%) and *Caucasian oak*, *Hornbean* and *Lexandrian Laurel* had lowest (0.52, 0.56 and 0.58 respectively) of crude Ash content. The crude protein content of the tree leaves ranged from 7 to 18%. The highest and lowest tannin content were related to *Beach tree* (0.063 g/kg DM) and *Caucasian oak* (0.018 g/kg DM) respectively. There were significantly differences among several leaves of trees species on OMD, ME and SCFA. Addition of Poly Ethylene Glycol (PEG) increased potential gas production compared without PEG. The highest gas production and rate of gas production was related to *Lexandrian Laurel* tree without PEG (214/9 ml and 4.34 ml/h respectively). Portioning factor, Microbial crude protein and Gas yield decreased when used PEG.

Conclusion Generally, obtained results showed that some of the leaves of trees can be fed as supplements to low protein forage, and can alleviate feed shortage for ruminants in dry season.

Keywords: Chemical composition, Disability, Gas production, Leaves of trees, Polyethylene Glycol (PEG).